



TITLE:

Suppression of ABHD2, identified through a functional genomics screen, causes anoikis resistance, chemoresistance and poor prognosis in ovarian cancer.(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Yamanoi, Kouji

CITATION:

Yamanoi, Kouji. Suppression of ABHD2, identified through a functional genomics screen, causes anoikis resistance, chemoresistance and poor prognosis in ovarian cancer.. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-09-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20662>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	山ノ井康二
論文題目	Suppression of <i>ABHD2</i> , identified through a functional genomics screen, causes anoikis resistance, chemoresistance and poor prognosis in ovarian cancer.（機能的ゲノミクススクリーンにより同定した因子 <i>ABHD2</i> の発現低下は、卵巣癌のアノイクス抵抗性、化学療法抵抗性をもたらし、予後不良につながる）		
（論文内容の要旨）			
<p>高異型度卵巣漿液性癌(High grade serous ovarian cancer; HGSOC)は、卵巣癌の中で最も多い組織型で予後不良であり、新規治療法の開発が望まれている。近年、The Cancer Genome Atlas (TCGA)などのゲノムワイドな解析からHGSOCでは広範囲にコピー数変異が生じている事が明らかになってきたが、その中でどれが機能的に重要な変異であるかはまだあまり解明されていない。アノイクス抵抗性は、悪性腫瘍細胞に特有の性質で、アポトーシス抵抗性、転移、化学療法抵抗性などに関連する。本研究では、機能的ゲノミクススクリーニングにより、HGSOCのアノイクス抵抗性に関わる新規因子の探索を試みた。</p> <p>標的遺伝子数が約15000個である、総数約80000個のレンチウイルス shRNA プラスミドで構成された shRNA ライブラリーを、軟寒天培地にてコロニー形成能力のない卵巣漿液性癌細胞株 OVCA420 に導入して軟寒天培地で培養し、21日目に直径100 μ m 以上となったコロニーをピックアップした。そしてDNAを抽出し、遺伝子導入されていた69種類の shRNA プラスミドを同定し、レンチウイルスベクターとして再構築し、それらを1つずつ元の OVCA420 に導入して軟寒天培地で培養した。結果、発現低下により OVCA420 のアノイクス抵抗性をもたらす3遺伝子：<i>ABHD2</i>, <i>ELAC2</i>, <i>CYB5R3</i>を見いだした。</p> <p>公開されている mRNA 発現マイクロアレイデータでこれらの3遺伝子に関して調べたところ、正常卵巣・卵管上皮や卵巣漿液性境界悪性腫瘍と比して、HGSOCにおいていずれも有意に発現が低かった（各 $p<0.01$）。また TCGA データにおいて、3遺伝子ともに HGSOC における copy number loss の頻度は高かった(<i>ABHD2</i>; 41.8%, <i>ELAC2</i>; 84.2%, <i>CYB5R3</i>; 83.5%)。</p> <p>3遺伝子の中で <i>ABHD2</i> について、さらに解析を行った。まず HGSOC のアノイクス抵抗性との関連が報告されている ERK 経路と p38 経路について評価した。OVCA420 細胞において、<i>ABHD2</i> 発現低下により ERK1/2, p38 のリン酸化亢進が見られ、ERK1/2, p38 リン酸化阻害剤によって、亢進したアノイクス抵抗性は有意に低下した(各 $p<0.01$)。また卵巣癌細胞株 SKOV3 に <i>ABHD2</i> を過剰発現させると、ERK1/2, p38 のリン酸化は低下し、アノイクス抵抗性は有意に低下した($p<0.05$)。したがって、<i>ABHD2</i> は ERK, p38 経路を介してアノイクス抵抗性を制御していると考えられた。</p> <p>京都大学医学部附属病院婦人科の HGSOC 臨床検体を用いて <i>ABHD2</i> の免疫組織学染色を行い、各種臨床因子との相関を検討した。<i>ABHD2</i> 発現低下群はプラチナ製剤抵抗群と有意に相関しており（$p=0.013$）、また有意に予後不良であった（$p=0.005$）。in vitro でプラチナ製剤の感受性を検討したところ、<i>ABHD2</i> 発現低下により、OVCA420 のシスプラチン、カルボプラチン感受性は有意に低下した（それぞれ $p=0.01$, $p<0.0001$）。</p>			

<p>以上、機能ゲノミクススクリーニングにより、HGSOCのアノキス抵抗性をもたらす因子を見いだした。特に <i>ABHD2</i> の発現低下は、ERK、p38 経路を介してアノキス抵抗性に関与しており、加えてプラチナ抵抗性にも関与して、不良な予後につながると考えられた。</p> <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>卵巣高異型度漿液性癌(High grade serous ovarian cancer; HGSOC)は、卵巣癌で最も多い組織型で予後不良である。アノキス抵抗性は癌細胞に特有の性質であり、アポトーシス抵抗性や化学療法抵抗性などに関連する。本研究では、HGSOCの病態解明を目的とし、アノキス抵抗性に関わる新規因子の探索を試みた。ソフトアガーにおけるコロニー形成能力を指標として、shRNA ライブラリーによる機能的ゲノミクススクリーニングを行い、卵巣癌細胞における <i>ABHD2</i>, <i>CYB5R3</i>, <i>ELAC2</i> の3 遺伝子の発現低下がアノキス抵抗性をもたらす事を見いだした。HGSOCの臨床サンプルにおいて、それら3 遺伝子ともDNA コピー数の減少が認められ、正常卵巣や卵管上皮に比して発現が低下していた。また特に <i>ABHD2</i> の低発現はHGSOCの予後不良と相関していた。さらに <i>in vitro</i> における実験で検討したところ、卵巣癌細胞株における <i>ABHD2</i> の発現低下は、ERK 経路、p38 経路の亢進と、プラチナ製剤抵抗性をもたらした。</p> <p>以上の研究は、卵巣癌の新たな病態解明に貢献し、婦人科腫瘍学の進歩に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成29年7月25日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
